

MODELAGEM MATEMÁTICA SEMI-MECANÍSTICA DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

R. A. AKISUE¹ e R. SOUSA Jr¹

¹ Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Engenharia Química
E-mail para contato: ruy@ufscar.br

RESUMO – O etanol de segunda geração é uma alternativa para as 158,5 milhões de toneladas de bagaço de cana-de-açúcar produzidas anualmente pelo setor sucro-alcooleiro no Brasil, e pode ser obtido por duas rotas: termoquímica ou bioquímica (ácida ou enzimática). Na rota bioquímica enzimática, materiais lignocelulósicos (como o bagaço de cana) são hidrolisados em açúcares fermentescíveis. O modelo para reação catalítica enzimática heterogênea com contribuições dos efeitos fractal e/ou de “jamming” e o modelo HCH-1 são modelos cinéticos semi-mecanísticos que se apresentam como alternativas para aplicação no design, otimização e scale-up dos reatores enzimáticos. Neste trabalho, fazendo uso dométodo de otimização local clássico deLevenberg-Marquardtpara ajuste de parâmetros (implementado em Fortran), foi possível ajustar os modelos citados a dados experimentais de hidrólise disponíveis em nosso laboratório.

1. INTRODUÇÃO

É crescente a pesquisa na área de produção de etanol de segunda geração. Embora ainda relativamente recente, ela mobiliza um grande número de pesquisadores em universidades e em programas como o Programa FAPESP de Pesquisa em Bioenergia (Bioen) que buscam tornar a produção de etanol de segunda geração, em escala industrial, economicamente viável (Marques, 2009). A diferença básica entre o etanol de primeira geração e o de segunda é que enquanto no primeiro caso o etanol é produzido através de uma extração e fermentação do caldo, o segundo é produzido através da hidrólise de materiais lignocelulósicos que posteriormente serão fermentados para a produção do etanol. (Buckeridge *et al.*, 2010).

Materiais lignocelulósicos podem ser processados por duas rotas distintas para a produção de bioetanol: uma rota termoquímica ou uma rota bioquímica. A primeira é baseada nos processos de pirólise e/ou gaseificação desses materiais, obtendo-se um gás de síntese que posteriormente passará por um processo catalítico adequado. Já a segunda rota (e a mais utilizada) é baseada nos processos de hidrólise e fermentação dos materiais lignocelulósicos, o que pode requerer um pré-tratamento do material. Basicamente, a hidrólise pode ser ácida ou enzimática (Lora *et al.*, 2008).

Na hidrólise enzimática o agente hidrolisante são conjuntos de enzimas, chamadas celulases, que são misturas de endoglucanases e celobiohidrolases (Galbe e Zacchi, 2007). Mas é necessário um

pré-tratamento do material (Almeida, 2012). Além disso, este processo exige um maior tempo de residência (Ogedae Petri, 2010).

A literatura atual apresenta diversos modelos de hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos, alguns com o objetivo de aplicação destes modelos cinéticos no design, otimização de processos e scale-up da engenharia de biorreatores(Sousa Jret *et al.*, 2011). Devido a fatores como a complexidade do substrato, ação das enzimas e a interação enzima – substrato(Sousa Jret *et al.*, 2011), a modelagem do processo de hidrólise está longe do trivial. Uma alternativa interessante dentro da perspectiva de aplicação em engenharia de biorreatores são os modelos semi-mecanísticos. Alguns deles têm como base o modelo clássico (homogêneo) de Michaelis Mentental como o modelo HCH-1 estudado por O`Dwyer.,*et al*(2007) e o modelo cinético para reação catalítica enzimática heterogênea com contribuições dos efeitos fractal e/ou de “Jamming” estudado por Xu e Ding (2007).

O modelo HCH1 é um dos possíveis modelos de Michaelis Menten modificado com inibição não competitiva. Observou-se que a taxa de hidrólise da celulose sofre um decréscimo, geralmente antes de todo o substrato ser consumido. Isto pode ser explicado por uma possível inibição pelo produto, baixa reatividade do substrato (devido à forma cristalina) ou à inativação e muitas vezes perda da enzima devido a uma adsorção irreversível com lignina (O`Dwyer *et al.*, 2007). A inibição pelo produto da celulase é uma das limitações que pode restringir seu uso prático em processos de conversão de biomassa.

O modelo HCH-1 utiliza inibição não competitiva e pode ser descrito pela equação 1.

$$V = -\frac{dG_x}{dt} = \frac{\kappa G_x E i}{\alpha + \phi G_x + \varepsilon E} \quad (1)$$

Onde G_x é a concentração de celulose, E é a concentração de enzima, ϕ é a fração da superfície da celulose que esta livre para ser hidrolisada e κ, α e ε são parâmetros que descrevem o grau de reatividade do substrato. A Equação 1 pode ser linearizada, obtendo-se a Equação 2.

$$\frac{1}{V} = \frac{\alpha + \phi G_x}{\kappa G_x i} \frac{1}{E} + \frac{\varepsilon}{\kappa G_x i} \quad (2)$$

Percebe-se que tanto o coeficiente linear quanto o coeficiente angular estão multiplicados por um fator $1/i$, o que é um indicativo que há um padrão de inibição não competitivo clássico (O`Dwyer *et al.*, 2007).

O segundo modelo anteriormente citado é o modelo cinético para reação catalítica enzimática heterogênea com contribuições dos efeitos fractal e de “Jamming” estudado por Xu e Ding (2007). Aplicou-se um formalismo fractal geral à cinética de Michaelis Menten homogênea. Além disso,

quantificou-se o bloqueio cinético causado por um excesso de enzima sobre o substrato, como pode ser visto na Equação 3 (Xu e Ding, 2007).

$$\left(1 - \frac{E}{jS}\right) \frac{k_2 E t^{1-f}}{1-f} = P - k_m \ln\left(1 - \frac{P}{S}\right) \quad (3)$$

Onde E é a concentração de enzimas, S é a concentração de substrato, j é o fator de “Jamming”, f é a dimensão fractal e k_m é a constante de Michaelis-Menten. A equação não integrada do modelo é representada pela Equação 4 (Xu e Ding, 2007).

$$\frac{d[P]}{dt} = \left(1 - \frac{E}{j[S]}\right) k_2 E t^{-f} \left(\frac{[S]}{k_m + [S]} \right) \quad (4)$$

Quando f tende a zero, tem-se que o efeito fractal pode ser desprezado, obtendo-se a Equação 5.

$$\frac{d[P]}{dt} = \left(1 - \frac{E}{j[S]}\right) k_2 E \left(\frac{[S]}{k_m + [S]} \right) \quad (5)$$

Após o detalhamento teórico de alguns modelos, é importante discorrer sobre o método de otimização (ajuste de parâmetros).

Em métodos de otimização local, a busca iterativa começa em um ponto inicial e a região em torno da vizinhança deste ponto é examinada. Os principais métodos dessa classe são: algoritmo baseado em gradiente (gradiente descendente), Newton, Gauss-Newton e Levenberg-Marquardt. Este último é uma combinação do algoritmo de Gauss e do gradiente descendente. Assim, ele dará resultados robustos, porém levando mais tempo para convergir. O método de Levenberg-Marquardt é aplicado na maioria dos problemas de ajuste paramétrico de modelos (Nelles, 2000).

2. OBJETIVOS

Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo aplicar os modelos HCH-1 de Hidrólise Enzimática (O'Dwyer *et al.*, 2007) e o Modelo de Catalise Enzimática Heterogênea com contribuição dos efeitos fractal e/ou de “Jamming” (Xu e Ding, 2007) aos dados de Carvalho (2011).

3. METODOLOGIA

Para o ajuste e análise dos modelos cinéticos, utilizaram-se os dados de hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar fornecidos por Carvalho (2011) tal como mostra a tabela 1.

Tabela 1: Valores de concentração de produto obtidas em função do tempo. À esquerda o conjunto de dados 1 e à direita o conjunto de dados 2. (Carvalho, 2011)

Tempo (min)	Concentração de Produto (g/l)	Tempo (min)	Concentração de Produto (g/l)
0	0	0	0
15	0,899	10	2,375
30	2,203	20	2,964
60	5,175	30	3,096
120	9,418	60	3,628
240	12,54	120	11,57
420	19,75	240	23,99
1740	32,53	540	36,73
2760	31,96	1200	46,03
		1770	42,9
		3090	54,3

Utilizaram-se os conjuntos de dados contidos na Tabela 1 acima e as condições iniciais $E = 7,83 \text{ g/l}$ e $S_0 = 33,33 \text{ g/l}$ para o primeiro conjunto de dados e $E = 13,05 \text{ g/l}$ e $S_0 = 77,77 \text{ g/l}$ para o segundo conjunto de dados. Para a aplicação do método de ajuste de parâmetros de LevenbergMarquadt, os modelos cinéticos foram ajustados utilizando software in house in Fortran.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Resultados do Ajuste do Modelo de Catálise Enzimática com Contribuição do Efeito de “jamming” de Xu e Ding (2007).

Os resultados obtidos para k_m , V_{\max} ($=k_2E$) e o parâmetro j ajustados (com $f = 0$) são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2: Valores de k_m , V_{\max} e o parâmetro j ajustados para os 2 conjuntos de dados

Conjunto de dados	k_m (g/l)	V_{\max} (g/(l.min))	j

1	17.57	0.094	8.54
2	17.57	0.270	0.41

Houve um aumento no valor de V_{\max} do conjunto 2 em relação ao conjunto 1. Isto se deve ao fato de que V_{\max} é função apenas da constante k_2 e da carga enzimática. Como esta aumentou 66,7% em relação à carga do conjunto, o valor de V_{\max} também aumentou proporcionalmente (75%). Pode-se perceber também que houve uma diminuição significativa no parâmetro j , o que acarretou em uma diminuição na velocidade de hidrólise, ou seja, houve um aumento no efeito “jamming”. Isso ocorreu pois o aumento da concentração inicial de substrato e da carga enzimática fizeram com que mais produto fosse formado. Provavelmente, parte desse produto permaneceu adsorvida na matriz sólida, contribuindo para um maior efeito de “jamming” nos sítios ativos de adsorção no substrato sólido.

A Figura 1 mostra gráficos construídos no programa Origin para concentração de produto em relação ao tempo, considerando os dados experimentais e os valores obtidos nas simulações.

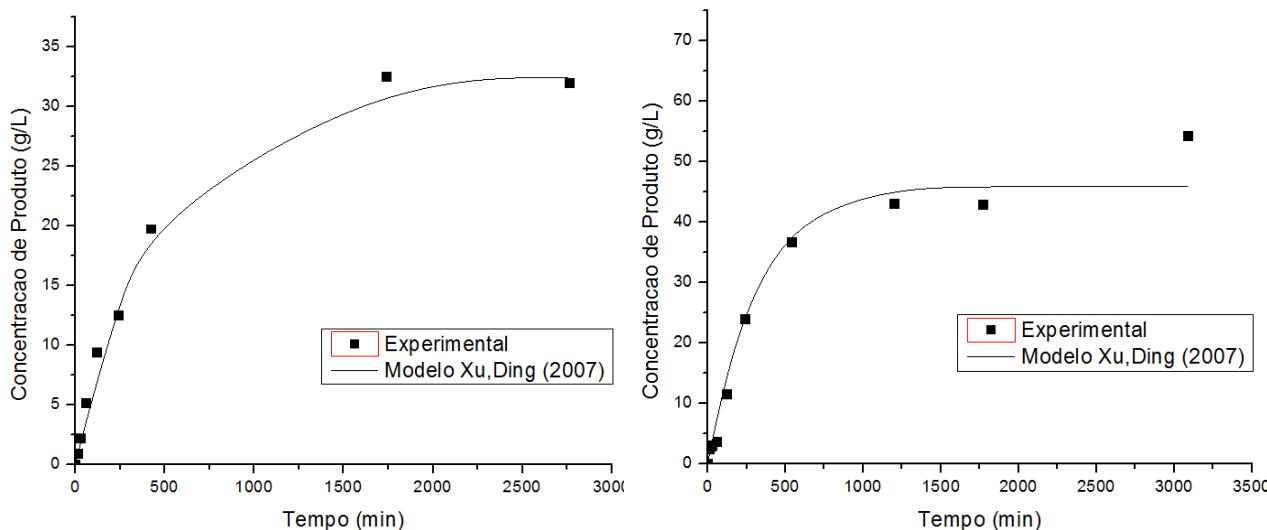


Figura 1 Gráficos de concentração de produto em função do tempo. À esquerda o gráfico relacionado ao conjunto 1 e à direita o gráfico relacionado ao conjunto 2.

Pode-se notar que em ambos os conjuntos há uma boa correspondência entre o modelo de Xu e Ding (2007) com efeito de “jamming” (linha contínua) e os dados experimentais (pontos), o que valida o modelo adotado.

4.2 Resultados do Ajuste do Modelo HCH-1 de O'Dwyer, et al. (2007)

Os resultados obtidos para V^{\max} (=kE), i, α , ϕ e ε ajustados são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3: Valores de V^{\max} , i, α , ϕ e ε ajustados para os 2 conjuntos de dados

Conjunto de dados	α (g/l)	V^{\max} (g/(l.min))	i	ε	ϕ
1	2,57	0,105	0,5	1,22	0,5
2	2,57	0,175	0,18	1,56	0,65

A Figura 2 mostra os gráficos gerados pelo programa Origin, que mostram a concentração de produto em relação ao tempo.

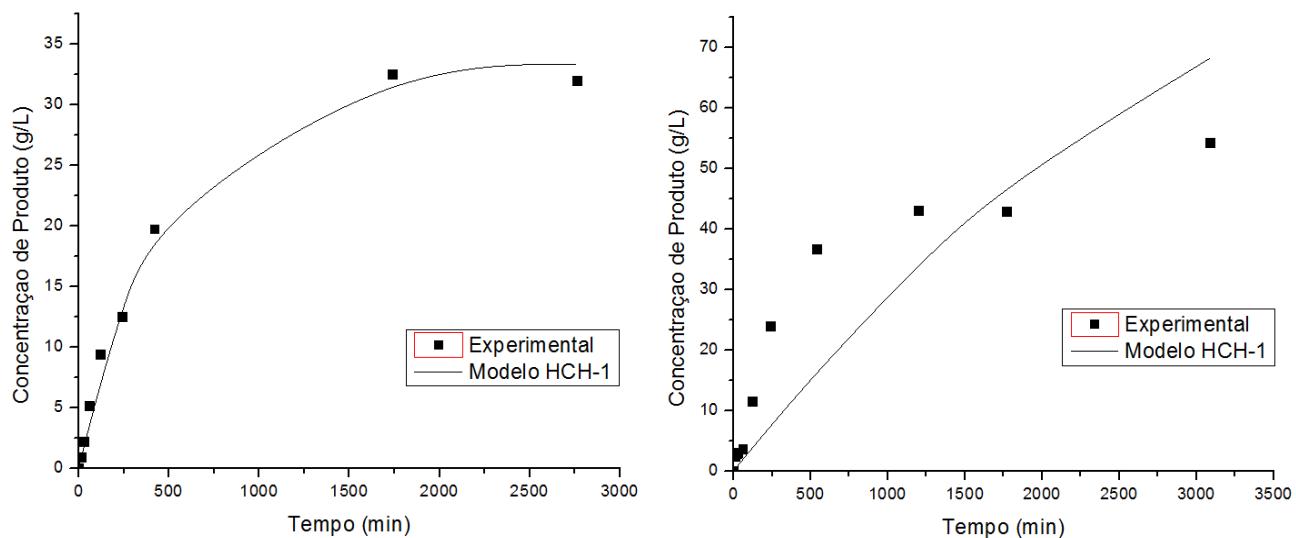


Figura 2: Gráficos de concentração de produto em função do tempo. À esquerda o gráfico relacionado ao conjunto 1 e a direita o gráfico relacionado ao conjunto 2.

Analizando as curvas experimentais e simuladas mostradas na Figura 2, para o modelo HCH-1 de O'Dwyer et al 2007, pode-se perceber que para o primeiro conjunto de dados há uma boa correspondência entre o modelo (linha contínua) e os dados experimentais (pontos), o que valida o modelo adotado. Já para o segundo conjunto de dados, vê-se que o ajuste obtido não foi totalmente satisfatório (embora haja certa coerência nos valores dos parâmetros obtidos, conforme a Tabela 3). Sugere-se, pois, o uso do modelo de catálise enzimática com contribuição do efeito de "jamming" de Xu e Ding, 2007, para essa condição de hidrólise.

5. CONCLUSÃO

Do presente trabalho pode-se concluir que o modelo decatálise enzimática com contribuição do efeito de “jamming” de Xu e Ding (2007) forneceu boa correspondência com os dados experimentais de Carvalho (2011), para os dois conjuntos de dados estudados. Já para o caso do modelo HCH-1 de O’Dwyer, et al. (2007), esse foi adequado para modelagem do conjunto de dados 1. Somando-se o estudo de Carvalho (2011) que aplicou os modelos de Michaelis-Mentenpseudo-homogêneo e heterogêneo com inibição e o modelo de Chrastil aos mesmos conjuntos de dados, têm-se diversas aplicações bem sucedidas da modelagem matemática semi-mecanística da hidrólise enzimática. Tal fatocorrobora a ideia da utilização desta classe de modelos simples, principalmente dentro da perspectiva de aplicação em engenharia de biorreatores. Suas equações, contendo poucos parâmetros, são baseadas em hipóteses que representam de forma simplificada a realidade, mas ainda assim se ajustam bem aos dados experimentais e podem ser utilizadas nodesign, otimização e scale-up dos reatores enzimáticos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, C.L. Etanol Celulósico. Universidade Federal do Ceará – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola. Seminários. Disponível em: <http://www.ppgea.ufc.br/arquivos_download/Etanol%20Celuloso.pdf> Acesso em: 02 jul. 2013.
- BUCKERIDGE, M.S.; SANTOS, W.D.; SOUZA, A.P. As rotas para o etanol celulósico no brasil. In CORTEZ, I.a.b. bioetanol de cana-de-açúcar. p&d para produtividade e sustentabilidade. São Paulo: Blucher, 2010. P. 365-380.
- CARVALHO, M.L. Kinect Study of the Enzymatic Hydrolysis of Sugarcane Bagasse. São Carlos: Departamento de Engenharia Química, UFSCar, 2011. Dissertação (Mestrado).
- GALBE, M. ZACCHI, G. Pretreatment of lignocellulosic Materials for Efficient Bioethanol Production. Advances in Biochemical Engineering/biotechnology. Vol.108 p41-65 2007.
- LORA, E.E.S.; CORAL, D.S.O; ROCHA, M.H. Rotas termoquímica e bioquímica para biocombustíveis: estado-da-arte, oportunidades e desafios para o Brasil. AGRENER GD 2008 – 7º Congresso Internacional sobre Geração Distribuída e Energia no Meio Rural . Disponível em: <<http://www.nipeunicamp.org.br/agrener/anais/2008/Artigos/23.pdf?3bc2dbeb0a7bf779fe39c865b70b3b3f=0d57f4f84e4640be3c9224acbd738f5a>> Acesso em: 10 maio de 2013.
- MARQUES, F. O alvo é o bagaço. Pesquisa FAPESP, n.163, p.17-25, set. 2009.
- NELLES, Oliver. Nonlinear Local Optimization. Ln: _____. Nonlinear System Identification: From Classical Approaches to Neural Networks and Fuzzy Models. 1º ed. Springer, 2001. P. 79 – 112.
- NELLES, Oliver. Nonlinear Global Optimization. Ln: _____. Nonlinear System Identification: From Classical Approaches to Neural Networks and Fuzzy Models. 1º ed. Springer, 2001. P. 113 – 120.

O'DWYER ET AL. Enzymatic hydrolysis of lime-pretreated corn stover and investigation os the HCH-1 Model: Inhibition pattern, degree of inhibition, validyos simplified HCH-1 Model. *Bioresource Technology* v.98 n.16 p 2969-2977, nov 2007.

OGEDA, T.L. PETRI, D.F.S. Hidrólise Enzimática de Biomassa. *Química Nova*. Vol 333, n.7 p1549-1558 jul. 2007.

SOUZA JR. ET AL. Recent trends in the modeling of celulose hydrolysis. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*.V28 n.4, p545-564, out/dec 2011.

XU F. e DING, H. A new Kinect model for heterogeneous (or spatially confined) enzymatic catalysis: Contribution from the fractal and jamming (overcrowding) effects. *Applied Catalysis A: General* v.317 n.01 p.70-81, jan 2007